Determination of Mesalazine Spectrophotometry Based on The Charge Transfer Complex n-π Using Reagent p-bromanil

Ghaith Luqman Sadeeq Al-Ramadhani **Sobhi Mohsen Jarallah Al-Mtioti**
Department of Chemistry, College of Education for Pure Sciences, University of Mosul, Mosul / Iraq

Received **Accepted**
25/09/2018 **07/11/2018**

Abstract

Simple, sensitive and rapid spectrophotometric method for the determination of mesalazine in pure form and pharmaceutical preparations is described. The method is based on the reaction of mesalazine with *p-bromanil* in the presence of borate buffer solution of pH9 to form a pink color charge transfer complex of maximum absorption peak (λ_{max}) at 346 nm. Under the optimized reaction conditions, Beer's law correlating the absorbance with mesalazine concentration was obeyed in the range of 0.48-12 μg ml^{-1}. The molar absorptivity was 6.5×10^3 $L.mol^{-1}cm^{-1}$. The limits of detection was 0.053μg ml^{-1}. The accuracy and precision of the method were satisfactory; the average recovery was 98.04% and values of relative standard deviations better than 1.70 %. The stoichiometry of the reaction was studied, and the reaction mechanism was postulated. The proposed method was successfully applied to the determination of mesalazine in its pharmaceutical tablet and capsule with good accuracy and precisions. The results obtained by the proposed method were compared with those obtained by the official method.

Keywords: Spectrophotometry; Charge transfer complex; mesalazine; p-bromanil

تقدير الميزالازين طيفياً بالاعتماد على معقد الشحنة المنتقلة π-n باستعمال كاشف بارا- برومانيل

غيث لقمان صديق الرمضاني صبحي محسن جارالله المتيوتي
قسم الكيمياء، كلية التربية للعلوم الصرفة، جامعة الموصل، الموصل/العراق

تاريخ الاستلام تاريخ القبول
2018/09/25 2018/11/07

الخلاصة

تم وصف طريقة طيفية سهلة وحساسة لتقدير الميزالازين بشكله النقي وفي مستحضراته الصيدلانية (الأقراص والكبسول). تعتمد الطريقة على التفاعل بين الميزالازين والكاشف بارا- برومانيل بوجود محلول البورات المنظم عند دالة حامضية pH9 مكونا معقد الشحنة المنتقلة ذي لون ارجواني يمتلك أقصى امتصاص له عند 346 نانوميتر. أمكن تطبيق قانون بير ضمن مدى التراكيز 0.48-12 مايكروغرام/مللتر في حين كانت الامتصاصية المولارية 6.5 ×10^3 لتر.مول$^{-1}$سم$^{-1}$. بلغ حد الكشف 0.053 مايكروغرام/مللتر ومعدل نسبة الاسترجاع 98.04% في حين كان الانحراف القياسي النسبي أفضل من 1.70%. تمت دراسة طبيعة المعقد فكانت 1:1 وميكانيكية التفاعل. طبقت الطريقة بنجاح في تقدير الميزالازين في مستحضراته الصيدلانية بشكل أقراص وكبسول بدقة وتوافق جيدين. كما تم مقارنة الطريقة المقترحة مع الطريقة القياسية في الدستور البريطاني.

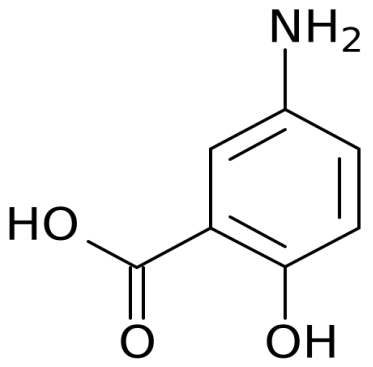
الكلمات المفتاحية: المطياف الضوئي ، معقد الشحنة المنتقلة ، ميزالازين ، بارا- برومانيل.

المقدمة

الميزالازين (حسب التسمية البريطانية) ويعرف ايضاً باسم الميزلامين (حسب التسمية الامريكية) او 5- امينو حامض السالسيليك (5-ASA) وحسب التسمية النظامية 5- امينو-2- هيدروكسي حامض البنزويك[1]. ويعد الميزالازين من الادوية المضادة للالتهابات اذ يستعمل في علاج التهاب الامعاء، المتضمنة التهاب تقرح القولون او التهاب الشرج و المستقيم ويحمي من امراض Crohn's، وذلك من خلال منع تطور امراض السرطان عند الاشخاص الذين يعانون من التهاب الامعاء [2].

وللميزالازين تأثيرات جانبية اولها الغازات المعوية بالإضافة الى صداع واسهال والآم البطن. ولم تسجل اي دراسات عند النساء الحوامل ولكن وجد تراكيز من الدواء في مستخلص حليب المرضعات. يجب تجنب اعطاء دواء الميزالازين للأطفال تحت سن سنتين وللأشخاص الذين يعانون من امراض الكلى وكذلك الاشخاص الذين لديهم حساسية من الاسبرين [3].

الميزالازين يكون بشكل مسحوق بلوري ابيض الى وردي . قليل الذوبان في الماء البارد والكحول ، يذوب بشدة في الماء الحار وكذلك في حامض الهيدروكلوريك ويمتلك الميزالازين الصيغة الكيميائية $C_7H_7NO_3$ بوزن جزيئي 153.135 غم. مول$^{-1}$ وله الصيغة الكيميائية المبينة في الشكل (1)[4].



$C_7H_7NO_3$

Mwt = 153.135 **g/mol**

الشكل (1) الصيغة الكيميائية للميزالازين

استعملت العديد من الطرائق التحليلية المختلفة لتقدير الميزالازين بشكله النقي ومستحضراته الصيدلانية و المحاليل البايولوجية تضمنت الطرائق الطيفية [5-13]، التفلورية [14،15] مطيافية الامتصاص الذري [16]، فولتامتري النبضي المشتق[17] وتقنية كروماتوغرافيا السائل عالي الاداء [18-22].

ان الطريقة المقترحة هي طريقة سهلة، دقيقة، حساسة واقتصادية لتقدير الميزالازين طيفياً بشكله النقي ومستحضراته الصيدلانية الاقراص والكبسول وذلك من خلال تفاعل الدواء بوصفه مانحا من نوع n مع الكاشف بارا- برومانيل بوصفه مستقبلا من نوع π في المحلول المائي ليعطي معقد شحنة منتقلة.

الجزء العملي

الأجهزة المستخدمة:

تم استعمال جهاز المطياف الضوئي Shimadzu UV-1800 PC, UV-Visible double-spectrophotometer، مع خلايا كوارتز ذات عرض 1سم، فضلاً عن جهاز قياس الدالة الحامضية نوع Thermo RL 060P Electron Company-Singapore، فيما تم تسخين المحاليل باستعمال حمام مائي نوع BS-11 Lab Companion-Korea، واجريت عمليات الوزن باستعمال ميزان حساس نوع KERN ABS-Germany. واستعمل جهاز Ultrasonic Cleaner للرج بالموجات فوق الصوتية نوع POWER SONIC 405 Lab Tech-Korea من أجل زيادة سرعة عملية الإذابة في تحضير المحاليل.

المواد الكيميائية:

كل المواد المستعملة في البحث كانت على درجة عالية من النقاوة ومصنعة من قبل شركات عالمية معتمدة.

محلول الميزالازين القياسي (100 مايكروغرام/مللتر): حضر المحلول بإذابة 0.01 غرام من الميزالازين النقي في كمية من الايثانول وخفف المحلول بالماء المقطر في قنينة حجمية سعت 100 مللتر. استعمل هذا المحلول في تحضير محاليل مخففة بالماء المقطر عند الحاجة اليها.

محلول بارا− برومانيل (1×10^{-3} مولاري): حضر بإذابة 0.0424 غرام من البرومانيل في 100 مللتر اسيتونيتريل.

محلول البورات المنظم pH9 (0.05 مولاري): حضر بإذابة 1.904 غرام من بورات الصوديوم الرباعية في 100 مللتر من الماء المقطر.

محلول الكاربونات المنظم pH9 : حضر من مزج 10 مللتر بتركيز 0.1 مولاري من كاربونات الصوديوم المائية مع 90 مللتر بتركيز 0.1 مولاري من بيكاربونات الصوديوم و تم ضبط الدالة الحامضية بجهاز pH meter .

محلول هيدروكسيد الصوديوم (0.1 مولاري): حضر المحلول بإذابة 0.4 غرام في 100مللتر ماء مقطر.

محلول حامض الهيدروكلوريك (0.1 مولاري): حضر بتخفيف 1مللتر من الحامض المركز (10 مولاري) في 100 مللتر من الماء المقطر.

طريقة العمل

تم اضافة كميات متزايدة من المركب الدوائي الميزالازين (0.48-12) مايكروغرام/مللتر، يتبعها اضافة 1 مللتر من محلول البورات المنظم pH9 ثم اضافة 1 مللتر من البرومانيل في قناني حجمية سعة 25مل، ثم اكمال الحجم بالماء المقطر الى حد العلامة. تركت المحاليل في حمام مائي عند 40°م لمدة 60 دقيقة وتم قياس امتصاص المحاليل مقابل المحلول الصوري عند طول موجي 346 نانوميتر. اتبعت الطريقة قانون بير حتى المديات المذكورة اعلاه يتبعها انحراف سالب عن القانون.

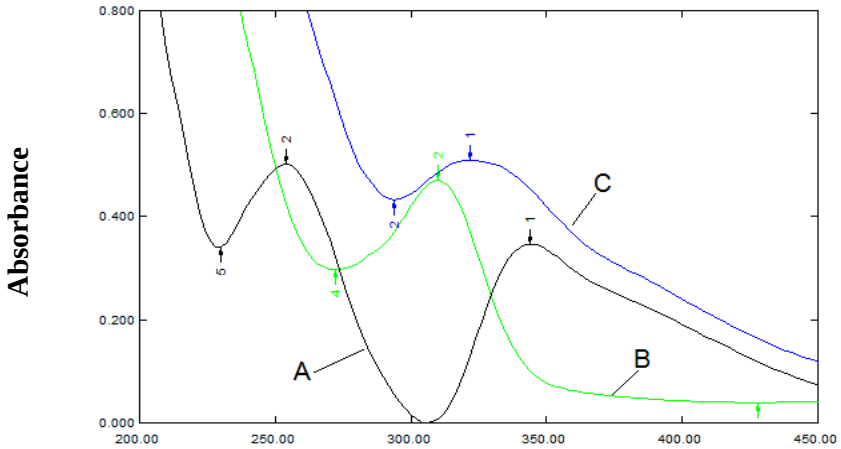
محاليل المستحضرات الدوائية:

تم مزج محتوى 6 كبسولات او طحن عشرة اقراص من المستحضرات الدوائية للميزالازين ووزنها. وتم وزن ما يكافئ 400 ملغم (محتوى كبسولة واحدة) او500 ملغم (محتوى قرص دوائي واحد) من الدواء الى قنينة حجمية سعة 250 مل وإذابتها بكمية قليلة من الايثانول ثم اكمل الحجم الى حد العلامة بالماء المقطر ورشح المحلول للحصول على 1600 مايكروغرام/مل من الكبسول او 2000 مايكروغرام/مل من الاقراص الدوائية والتي استعملت لتحضير محلول 100 مايكروغرام/مللتر من الميزالازين، اتبعت طريقة العمل الموصوفة اعلاه.

النتائج والمناقشة

طيف الامتصاص النهائي:

تتضمن الطريقة تفاعل الميزالازين مع الكاشف بارا- برومانيل بوجود محلول البورات المنظم (pH9) ليعطي معقد شحنة منتقلة ذات لون بنفسجي يمتلك اقصى امتصاص عند 346 نانوميتر، والذي تم استعماله في القياسات اللاحقة، وكما موضح في الشكل (2) والذي يظهر ان للمحلول الصوري اقصى امتصاص عند 317 نانوميتر و امتصاص قليل عند 346 نانوميتر.

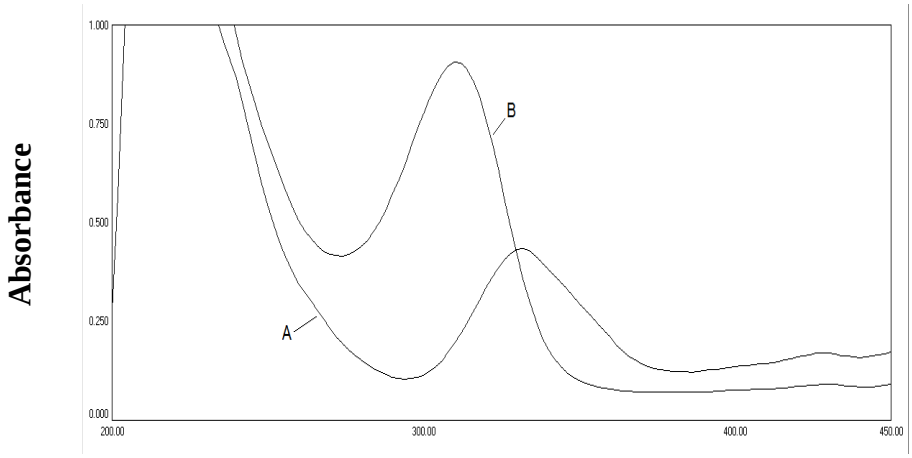


الشكل (2) طيف الامتصاص (A) لمعقد الميزالازين (8 مايكروغرام/مللتر) مع كاشف بارا- برومانيل (1×10^{-3} مولاري) ضد المحلول الصوري و (B) المحلول الصوري ضد الماء المقطر تحت الظروف المثلى (C) لمعقد الميزالازين مع كاشف بارا- برومانيل ضد الماء المقطر تحت الظروف المثلى.

وتمت دراسة الظروف المثلى اللازمة لتكوين المعقد ميزالازين – بارا- برومانيل وذلك بتغيير احد المعطيات وتثبيت الاخرى ودراسة تأثيرها على امتصاص المعقد وكما موضح شرحها في الفقرات التالية:

تأثير المذيب

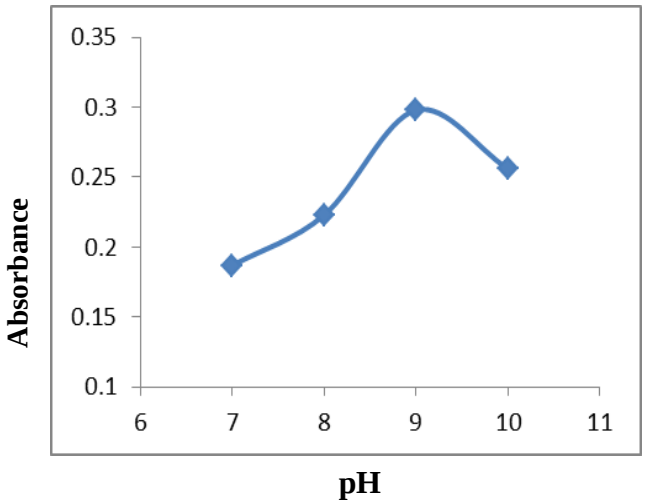
تم دراسة انواع مختلفة من المذيبات مثل الماء، الميثانول، الايثانول والاسيتونيتريل كوسط للتفاعل وللحصول على حساسية عالية واستقرار للمعقد. ووجد ان استعمال الماء كمذيب للدواء والاسيتونيتريل كمذيب للبرومانيل وبوجود 1 عياري من هيدروكسيد الصوديوم والتخفيف بالماء المقطر هو الوسط المناسب للتفاعل وتكوين المعقد الشكل (3) وقد تم استعمال هذا النظام من المذيبات في الخطوات اللاحقة.



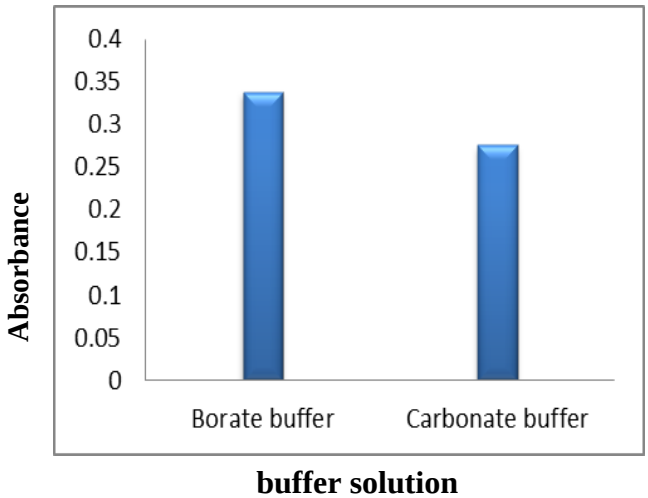
الشكل (3) تأثير مذيب الاسيتونيتريل على (A) امتصاص 10 مايكروغرام/مللتر من الميزالازين مع كاشف بارا– برومانيل (1×10^{-3} مولاري) ضد المحلول الصوري، (B) المحلول الصوري ضد الماء المقطر.

تأثير الدالة الهيدروجينية والمحاليل المنظمة

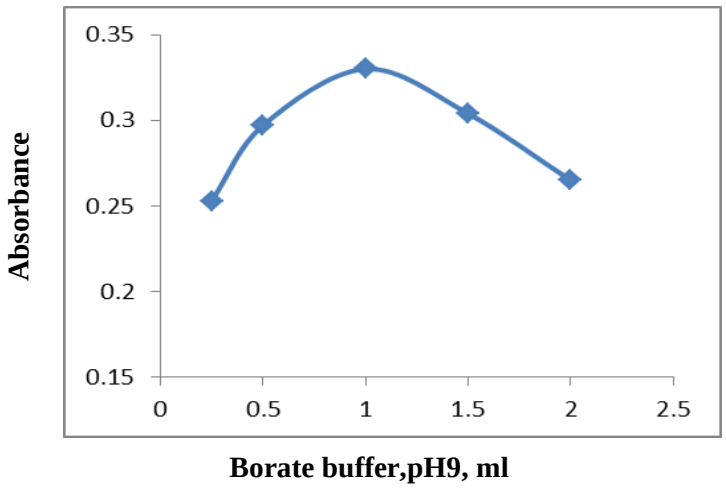
تم دراسة تأثير دوال حامضية مختلفة تراوحت بين 7-10 باستعمال محلولي 0.1 عياري من حامض الهيدروكلوريك أو هيدروكسيد الصوديوم. وقد وجد ان المعقد يعطي اقصى امتصاص عند دالة هيدروجينية pH9 مع ازاحة حمراء ليعطي المعقد افضل امتصاص عند 346 نانوميتر باستعمال هيدروكسيد الصوديوم الشكل (4). كما تم دراسة تأثير استعمال محاليل منظمة عند دالة هيدروجينية pH9 محضرة من محلول البورات المنظم والكاربونات المنظم وقد وجد ان استعمال (1مل) من محلول البورات المنظم يعطي للمعقد اقصى امتصاص الشكل (5) و(6).



الشكل (4) تأثير الدالة الحامضية على امتصاص 8 مايكروغرام/مللتر من الميزالازين



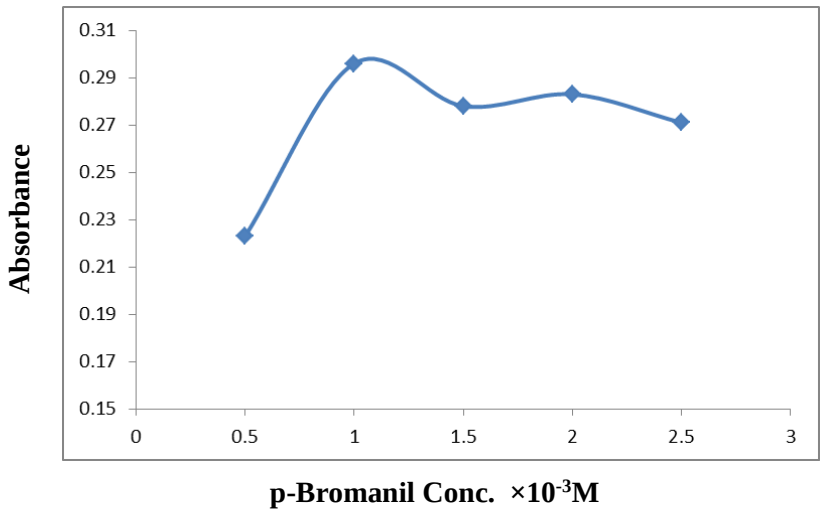
الشكل (5) تأثير المحاليل المنظمة على امتصاص 8 مايكروغرام/مللتر من الميزالازين



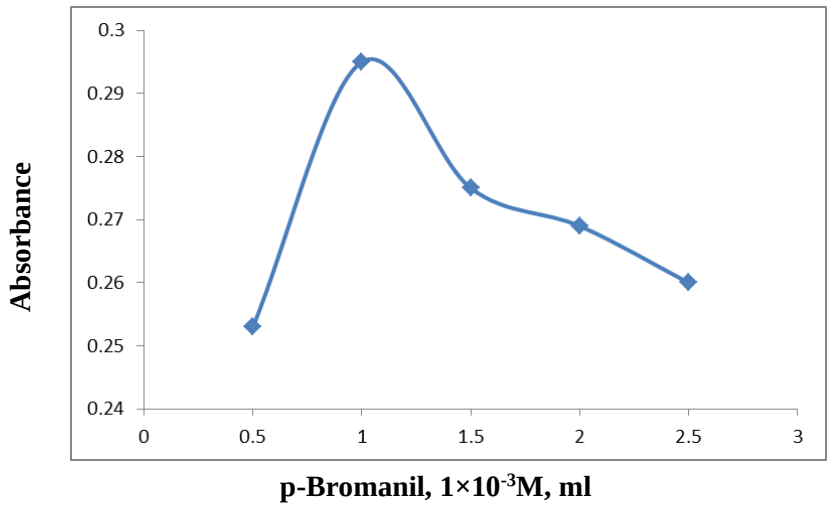
الشكل (6) تأثير حجم محلول البورات المنظم على امتصاص 8 مايكروغرام/مللتر من الميزالازين

دراسة تأثير تركيز الكاشف بارا- برومانيل

تم دراسة تأثير تراكيز مختلفة (0.5×10^{-3} -2.5×10^{-3} مولاري) من البرومانيل للحصول على افضل امتصاص للمعقد، وقد وجد ان استعمال (1مل) من تركيز 1×10^{-3} مولاري من البارا- برومانيل يعطي افضل شدة امتصاص للمعقد الشكل (7 و8). وقد تم استعمال هذه الظروف في التجارب اللاحقة.



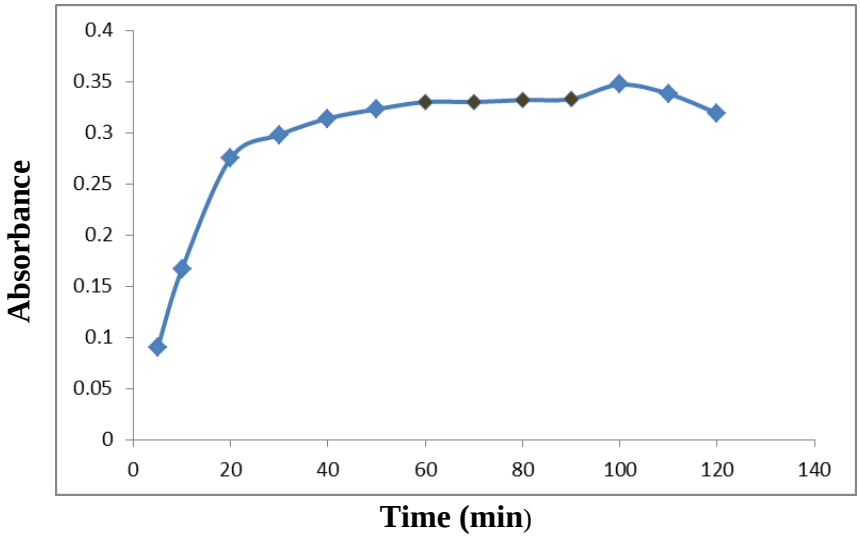
الشكل (7) تأثير تركيز كاشف البارا- برومانيل على امتصاص 8 مايكروغرام/مللتر من الميزالازين



الشكل (8) تأثير حجم كاشف البارا– برومانيل على امتصاص 8 مايكروغرام/مللتر من الميزالازين

دراسة تأثير درجة الحرارة وزمن الاستقرار لتكوين المعقد

تم دراسة تأثير الزمن اللازم لتكوين واستقرار المعقد عند درجات حرارية مختلفة تراوحت بين درجة حرارة الغرفة (20°م) و 45°م وذلك بمتابعة امتصاص المعقد ضد محلوله الصوري عند أزمان بين 5 و200 دقيقة. وقد اعطى المعقد اعلى امتصاص بعد 60 دقيقة عند درجة حرارة 40°م وبزمن استقرار 30 دقيقة الشكل (9) والتي استعملت في الدراسات اللاحقة.



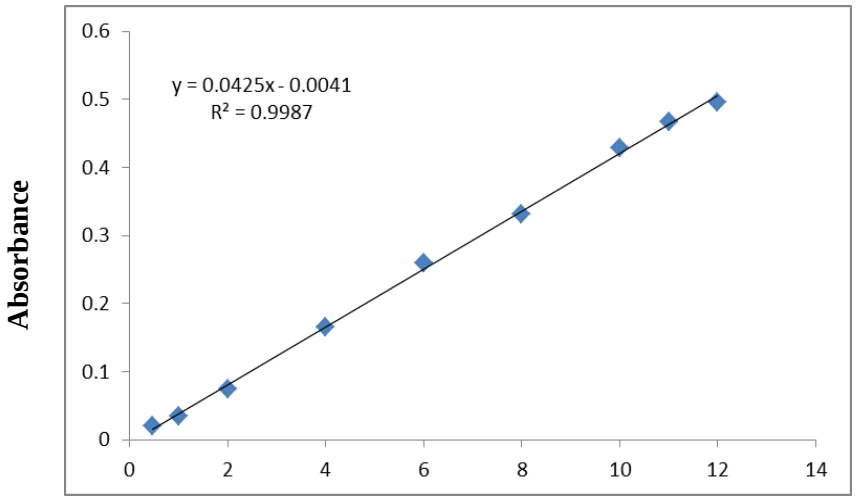
الشكل (9) تأثير درجة الحرارة على امتصاص 8 مايكروغرام/مللتر من الميزالازين مع بارا– برومانيل في 40°م

تأثير تسلسل الاضافة

من اجل الحصول على افضل امتصاص للمعقد تم إتباع تسلسل الاضافة المتبع في طريقة العمل، اذ اعطت إضافات التسلسلات الاخرى انخفاضاً واضحاً في قيمة امتصاص المعقد.

المنحني القياسي

من خلال الشكل (10) تم ايجاد حدود قانون بير للطريقة والامتصاصية المولارية والتي تشير الى حساسية الطريقة العالية، بالإضافة الى معامل الارتباط والذي يشير الى المواصفات الخطية للمنحني القياسي. كما تم حساب الانحراف القياسي النسبي والاسترجاعية لستة مكررات لثلاث تراكيز مختلفة والتي تشير الى دقة وتوافق الطريقة. وتم حساب حد الكشف والذي كانت قيمته اوطئ من اقل قراءة على المنحني (الجدول 1).



الشكل (10) المنحني القياسي لتقدير الميزالازين

جدول (1) ملخص الخصائص الطيفية والبيانات الاحصائية للطريقة المقترحة

القيم المقاسة للطريقة المقترحة	
Beer's law limits (µg ml^{-1})	0.48 – 12
Molar absorptivity ($l.mol^{-1}. cm^{-1}$)	6.5×10^3
LOD (µg.ml^{-1})	0.053
LOQ (µg.ml^{-1})	0.176
Average recovery (%)**	98.04
Correlation coefficient(R^2)	0.9987
Regression equation (*Y*) *	
Slope, *a*	0.0425
Intercept, *b*	0.0041
RSD**	≤1.70

* $Y = a\,X + b$, where X is the concentration of mesalazine in µg ml^{-1}.
** Average of six determinations.

المتداخلات

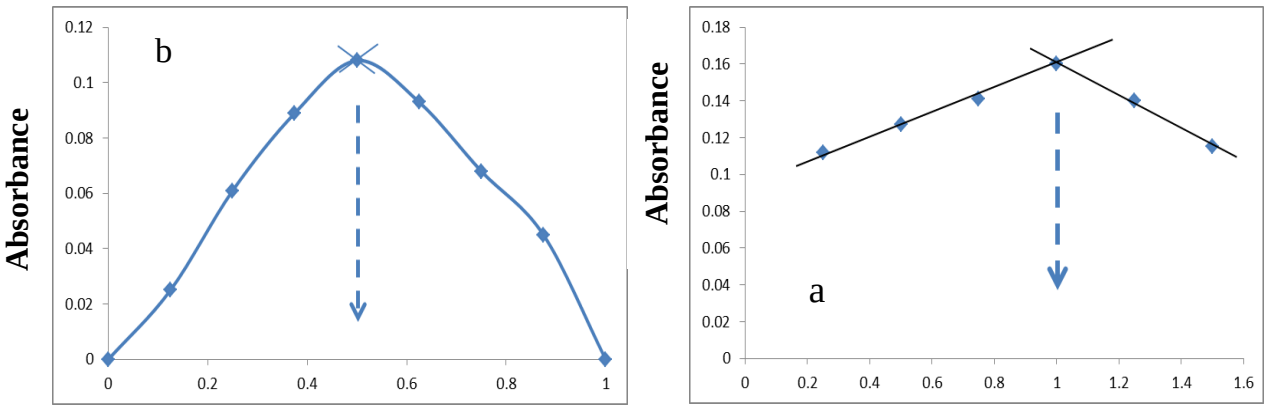
تم دراسة تأثير المتداخلات لبعض من مواد السواغ التي غالبا ما يتم اضافتها من قبل الشركات المصنعة للمستحضرات الصيدلانية وذلك من خلال قياس الامتصاص لمحاليل تحتوي على (8 مايكروغرام/مللتر) من الميزالازين وكميات مختلفة من مواد السواغ في قناني حجمية سعة 25مل. وقد وجد انه لا يوجد تداخل لمواد السواغ الا في حالة اضافة كميات كبيرة منها الجدول(2).

جدول (2) تأثير مواد السواغ على المركب الدوائي

Foreign Compound	Recovery of 8 µg ml^{-1} of mesalazine per µg/ml Foreign added				
	50	100	150	200	250
Glucose	100.9	102	103.7	105.4	106.3
Lactose	101.2	102.1	103	105.2	-
Starch	99.4	100.3	105.4	109.6	-
Sodium chloride	100.9	99.6	97.8	95.1	92.4
Arabic Gum	103	104.2	105.6	-	-

نسبة تركيب المعقد وثابت الاستقرار

تم دراسة نسبة تركيب المعقد المتكون بين الميزالازين وكاشف بارا– برومانيل بتطبيق طريقتي التغيرات المستمرة (طريقة Job's) وطريقة النسبة المولية [23]. وذلك باستعمال محاليل متساوية التركيز (6×10^{-4} مولاري). وتشير النتائج الى ان المعقد متكون بنسبة 1:1 من الميزالازين الى الكاشف الشكل (11). وهذا يدل ان معقد الشحنة المنتقلة من نوع n-π قد تكون من خلال مجموعة الامينو لمركب الميزالازين.



الشكل (11) النسبة المولية **(a)** والتغيرات المستمرة **(b)** لمعقد الميزالازين (6×10^{-4} مولاري وكاشف بارا– برومانيل (6×10^{-4} مولاري تحت الظروف المثلى

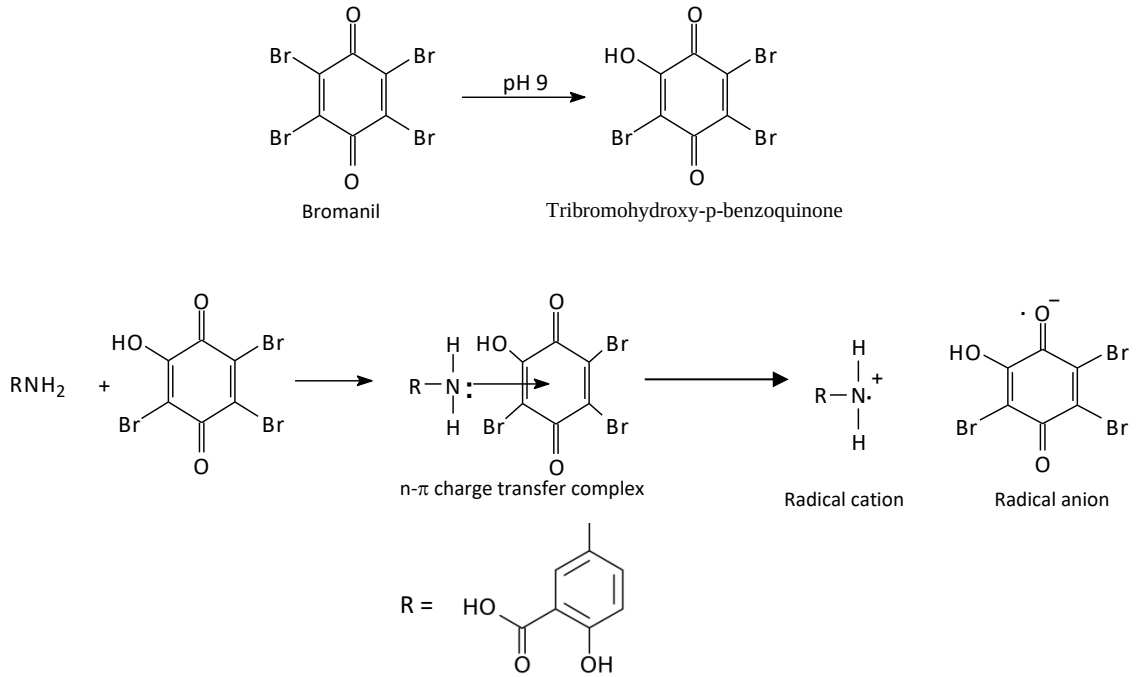
وتم حساب ثابت الاستقرار للمعقد من خلال مقارنة الامتصاص لمحلول يحتوي على كميات متكافئة من الميزالازين وكاشف بارا- برومانيل (As) الى محلول يحتوي على زيادة من البرومانيل (الكمية المثلى)(Am). اذ تم استعماله حسب المعادلة التالية بالاعتماد على النسبة 1:1

$$Kc= (1-\alpha) / \alpha^2 C$$
$$\alpha= (Am-As) /Am$$

حيث Kc هو ثابت الاستقرار (لتر.مول$^{-1}$) و α هي درجة التفكك و C تركيز المعقد والمساوية لتركيز المركب الدوائي، وكانت قيمة ثابت الاستقرار لمعدل ثلاثة تراكيز هي 6×10^5 لتر.مول$^{-1}$ والتي تشير الى استقرارية عالية للمعقد.

ميكانيكية التفاعل

ان تفاعل تكوين معقد الشحنة المنتقلة بين الامينات بوصفها مانحات من نوع n والكاشف بارا- برومانيل بوصفه مستقبلا من نوع π في المحلول المائي هي تفاعلات غير واضحة بشكل كامل. على كل حال في هذا البحث فإن المعقد الناتج في المحلول المائي تكون بنسبة 1:1 بعد اضافة الميزالازين الذي يمتلك مجموعة امينو اولية الى كاشف البرومانيل في وسط قاعدي pH9 والذي اعطى اعلى امتصاص عند 346 نانوميتر. فيما يعطي كاشف البرومانيل اقصى امتصاص عند 317 نانوميتر في وسط قاعدي pH9 والذي ربما يعود الى تكوين tribromohydroxy-p-benzoquinone [24]. والذي يعمل ككاشف تعقيد مع المركب الدوائي. ان الانتقال الجزئي للمزدوج الالكتروني من المانح الى المستقبل ربما يحدث مع تكوين جذر حر ملون ذي معامل امتصاص عالٍ. وبالاعتماد على ذلك فقد تم اقتراح الميكانيكية الاتية:



التوضيح (1) الميكانيكية المقترحة لتفاعل تكوين معقد الشحنة المنتقلة بين بارا- برومانيل و الميزالازين

تطبيق الطريقة المقترحة على المستحضرات الصيدلانية

تم تطبيق الطريقة المقترحة بنجاح في تقدير الميزالازين في مستحضراته الصيدلانية على هيأة اقراص وكبسول. اذ تم مقارنة النتائج احصائيا من خلال حساب t-test للتعبير عن دقة الطريقة وحساب F-test للتعبير عن توافقها بالمقارنة مع الطريقة المعتمدة في الدستور البريطاني (طريقة التسحيح الجهدي) [25] عند مستوى ثقة 95% لثلاث درجات حرية كما موضح في الجدول (3). وتظهر النتائج ان قيم t- test و F-test هي اقل من القيم النظرية (t= 3.18 ، F= 9.28) [26]، وهذا يشير الى انه لا يوجد اختلاف معنوي بين الطريقة المقترحة والطريقة المعتمدة.

جدول (3) تقدير الميزالازين في المستحضرات الصيدلانية باستخدام الطريقة المقترحة والمقارنة مع الطريقة المعتمدة

Procedure applied	Pharmaceutical preparation	Drug amount present (µg ml^{-1})	Recovery[a] (%)	Drug content found (mg)	Average recovery (mg)	Certified value (mg)
Proposed method	Pentasa Tablet / Ferring AS/ Turkey	1 4 8	98.8 100.35 99.4	494 501.7 497	497.56 (0.28,2.39)[b]	500 mg
	Mesacol Capsule /universal pharmaceutical industries-Unipharma/ Syria	1 4 8	98 98.87 99.03	392 395.5 396.12	394.54 (2.81,2.02)[b]	400mg

[a] Average of three determinations.
[b] Figures in parenthesis are the calculated values for *t*, and *F* respectively.

الاستنتاج

ان الطريقة الطيفية المقترحة ذات حساسية عالية (يمكن تقدير كميات ضئيلة من الميزالازين)، وذات دقة عالية (معدل الاسترجاعية 98.04%) وتوافق جيد (RSD ≤ 1.62) كما انها طريقة سهلة اذ لا تحتاج إلى استعمال وسط عضوي او الى استخلاص. كما ان الطريقة المقترحة طبقت بنجاح لتقدير المركب الدوائي المدروس في مستحضراته الصيدلانية على هيأة اقراص وكبسول.

المصادر

1- Actis.GC, Pllicano.R and Rizzetto.M, "Individually administered or co-prescribed thiopurines and mesalamine for inflammatory bowel disease" .World J Gastroenterol 15;1420-1426,(2009).
2- Sandborn.WJ, Feagan.BG and Lichtenstein.GR, "Medical management of mild to moderate Crohn's disease : evidence based treatment algorithms for induction and maintenance of remission"; Aliment Pharmacol Ther 26:987,(2007).
3- US National Library of Medicine 8600 Rockville Pike,Bethesda,MD 20894 US Department of Health and Human Service National Institutes of Health Page Last updated May (2018) .
4- Finkel, Cubeddu and Clark; Lippincott's Illustrated Reviews: Pharmacology, 4th Edition; 393,(2009).
5- Al-Shreify.Z.A.M, "Development of spectrophotometric and fluorophotometric methods for determination of phenolicand nitrogenic drug compounds",M.Sc. Thesis, Mosul University, (2012).
6- Abdalla.F.A.A and Elbashir.A.A, "Development and validation of spectrophotometric methods for the determination of mesalazine in pharmaceutical formulation", J.Med.Chem, 4(3),361-366.,11,(2014).
7- Zakaria.R.A, "Spectrophotometric determination of Mesalazine by 8-hydroxyquinoline and N-(1-naphthyl)ethylene- diaminedihydrochl oride reagents in bulk and capsule dosage forms", J. Sci.,24(1),146-158,(2013).
8- Al-Enzy.M.S, Al-Sabha.T.N and Al-Ghabsha.T.S, "Use of charge transfer complex reaction in spectrophotometric micro Determination of some drugs", Jord. J. Chem.,7,87-102,(2012).
9- Al-Sabha.T.N, Al-Enizzi.M.S and Al-Taee.O.A, "Application of chloranil and fluoranil π- acceptors for the Spectrophotometric determination of mesalamine in pharmaceuticals", Eur. Chem. Bull., 3(4),377-383,(2014).
10- Salih.E.S and Al-Sharook.M.M, "Spectrophotometric assay of mesalazine in pharmaceutical preparation via oxidative coupling reaction with thymol and sodium metaperiodate", J.Edu.&Sci.,21, 103-115,(2008).
11- Al-Fakhry.M.H.A, "The use of oxidative coupling reaction for spectrophotometric determination of aniline and its substituents and the drugs dipyrone and mesalazine", M.Sc.Thesis, Mosul University, 64-79,(2006).
12- Al-Daoudi.N.M.I, "Spectrophotometric determination of some drugs by using prussic blue reaction and methylene blue and rhodamine-B dyes", M.Sc.Thesis, Mosul University,62-119,(2011).
13- Al-Nuaimi. I. K. O, "Development of spectrophotometric and fluoro photometric methods for determination of some drug compounds ,M.Sc.Thesis, Mosul University,(2017).
14- Gui.F.L, Li.W, Fan.Y.C and Hu.Z-D, "Fluorescence spectroscopy studies on 5-aminosalicylic acid and zinc 5-aminosalicylate with human serum albumin", J.Pharm.Biomed.Anal.,39,189- 197,(2004).
15- Al-Abdaly. Z. Z. S, "Development of Spectrophotometric ,Spectro fluorometric and High-performance Liquid ChromatographicMethods for Determination of some Drug Compounds", Ph.D.Thesis, Mosul University,(2013).
16- AL-Meshaekhy.M.Y,"Development of spectrophotometric methods and atomic absorption in drug compounds analysis using different reactions ",Ph.D. Thesis, Mosul University,(2017).

17- Nigoric.B and Imunic.B, "Determination of 5-amino salicylic acid in pharmaceutical formulation by differential pulse voltammetry", J. Pharm. Biomed. Anal.,31,169-174,(2003).
18- Rao.K.H, Rao.A.L and Sekhar.K.C, "Validated PR-HPLC method for the estimation of mesalazine in bulk and tablet dosage form", Int. J. Res. Pharm. Chem., 3, 472- 480,(2013).
19- Elmasry. M. S, Blagbrough. I. S, Rowa. M. G and Saleh. H. M, "Quantitative HPLC analysis of mebererine, mesalazine, sulphasalazine and dispersible aspirin stored in avenalink monitored dosage system with co-prescribed medicine", J.Pharm. Biomed. Anal.,54, 646-652,(2011).
20- Abdolmohammad- Zadeh. H and Kohansal. S, "Determination of mesalamine by spectrofluorometry in human serum after solid-phase extraction with Ni-AL layered double hydroxide as a nanosorbent", J. Braz. Chem. Soc.,23,473-781,(2012).
21- Pastorini. E, Locatelli. M, Simoni. P, Roda. G and Roda. E, "Development and validation of an HPLC-ESI- MS/MS method for determination of 5-aminosalicylic acid its major- metabolites N-acetyl-5-aminosalicylic acid in human plasma", J. Chromatogr. B, 872, 99- 106,(2008).
22- Rafael.J.A, Jobar.J.R , Gasagrande.R and Geargetti.S.R, "Validation of HPLC, DPPH and nitrosation methods for mesalamine determination in pharmaceutical dosage forms", Braz.J. Pharm. Sci., 43,(2007).
23- Skoog.D.A, West.D.M, Holler.F.J and Crouch.S.R, "Fundamentals of Analytical Chemistry", 9th ed. Mary Finch,USA,(2013).
24- Townshend.A, "Analytical applications of molecular complexes", *Proc. Soc. Anal. Chem.*,
25- British pharmacopeia, CD-ROM, (2015).
26- Harevy.D, ″Modern Analytical Chemistry″, McGarw-Hill Higher Education,USA,(2000).